Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Basel
(Direktor: Prof. Dr. O. Gsell)

SERUM β-GLUCURONIDASE AKTIVITÄT IN ABHÄNGIGKEIT VON GESCHLECHT UND ALTER BEI DIABETES MELLITUS

INAUGURAL-DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER GESAMTEN HEILKUNDE
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BASEL

vorgelegt von
Mary Jösch-Locher
von Basel

1968
Elsevier Publishing Company Amsterdam

1967

Arbeit under Leitung von Priv.Doz. Dr. U.C. Dubach

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. O. Gsell

Tag der Promotion: 21. Dezember 1967

Sonderabdruck aus: CLINICA CHIMICA ACTA (1968)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Herrn Priv.-Doz. Dr. U.C. Dubach, unter dessen Anleitung ich diese Arbeit verfasst habe, möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546022_0096

Reprinted from
Clinica Chimica Acta
Elsevier Publishing Company,
Amsterdam
Printed in The Netherlands

SUMMARY

Serum β-Glucuronidase Activity in Diabetes Mellitus in Dependence of Sex and Age.

With the aid of a modified method according to Fishman the activity of β-glucuronidase in serum was determined in 97 healthy blood donors. The mean for women was 1317 ± 1244 (±2 s) Fishman units and for men 1791 ± 1678 (±2 s) F.u. Examination of 113 serum samples of patients with diabetes mellitus yielded in comparison with normal controls an increase of enzyme activity for men and women independent of the blood sugar values and severity of diabetes mellitus judged by therapy. The mean for 57 men was 2858 F.u. (range 800–16600 F.u.) and for 56 women 2324 F.u. (range 800–5650 F.u.). It is postulated that the increased β-glucuronidase activity in serum of patients with diabetes has to be referred to an insulin-independent metabolic pathway of glucose degradation. Such a pathway is probably the glucuronic acid cycle.

Die β-Glucuronidase (β-Gluc.) (E.C. 3.2.1.31) wurde 1915 erstmals vom Japaner Sera[22] in tierischem Gewebe nachgewiesen. Das in pflanzlichen und tierischen Organismen weit verbreitete Enzym katalysiert die Hydrolyse der Glucuronsäure-Ester von Alkoholen, Phenolen, Steroiden und anderen Stoffen. Die β-Gluc. ist β-Glucuronid-spezifisch; α-Glucuronide sowie α- und β-Glucoside werden nicht gespalten. Die Affinität zu den einzelnen Glucuroniden ist unterschiedlich; es müssen deshalb zu ihrer Bestimmung Substrate mit möglichst grosser Hydrolysegeschwindigkeit gewählt werden. Ein solcher Stoff ist unter anderen Phenolphthalein-monō-β-Glucuronid, das 1946 von Talalay *et al.*[25] als Substrat zur Bestimmung der β-Gluc. eingeführt wurde. 1948 beschrieben Fishman *et al.*[6] eine Methode mit Phenolphthalein-Glucuronid, die sich auch zur Messung der β-Gluc.-Aktivität im Serum eignet. Später wurden von anderen Autoren[9,30,18,24] noch weitere Substrate eingeführt: am meisten Verbreitung scheint jedoch mit einigen Variationen die Fishman-Methode gefunden zu haben.

Über die genaue Funktion der β-Gluc. im Intermediärstoffwechsel herrscht

* Direktor: Prof. Dr. O. Gsell.

noch Unklarheit. Einer Erhöhung ihrer Aktivität kann eine Vielzahl von Erkrankungen zu Grunde liegen. Verschiedene Autoren haben sich mit dem Problem der β-Gluc.-Aktivität bei Arteriosklerose befasst. Im Unterschied zu anderen fand Kayahan[11] eine verminderte Aktivität im Serum von Patienten mit Arteriosklerose und in der Intima arteriosklerotischer menschlicher Aorten. Die Untersuchungen anderer Autoren deuten aber darauf hin, dass sowohl die Aktivität in den von Arteriosklerose befallenen Gefässen[2,17] als auch die Enzymaktivität im Serum von Patienten mit Arteriosklerose[13,15] erhöht ist. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, dass bei Diabetikern, die in besonderem Masse zu Arteriosklerose neigen, eine gesteigerte β-Gluc.-Aktivität befunden wird. Ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Serum-β-Gluc.-Aktivität und der Blutzuckerkonzentration besteht, ist umstritten[3,4,16,31–33].

Neben der Abklärung der β-Gluc.-Aktivität in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter bei Normalpersonen hat die vorliegende Arbeit zum Ziel, das Verhalten der Enzymaktivität an einem Krankengut mit Diaebtes mellitus zu untersuchen, die Höhe der gefundenen Werte mit den Blutzuckerwerten zu vergleichen und abzuklären, ob eine Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Schwere der diabetischen Erkrankung besteht.

METHODE

Die Bestimmung der Serum-β-Gluc.-Aktivität erfolgte nach der Methode von Fishman[7]. Das Prinzip besteht in der enzymatischen Spaltung von Phenolphthaleinglucuronid durch die β-Gluc., wobei die Menge freigesetztes Phenolphthalein in alkalischer Lösung kolorimetrisch bestimmt werden kann. In der von Fishman[7] herausgegebenen Arbeitsanleitung wird die Molarität des Phenolphthaleinglucuronids mit 0.01 *M* angegeben; in neueren Versuchen aber braucht derselbe Autor eine 0.06 *M* Lösung[8]. In der vorliegenden Untersuchung kam in Angleichung an die neuere Methode 0.03 *M* Phenolphthaleinglucuronid zur Anwendung. Aus finanziellen Erwägungen wurde auf eine höhermolare Lösung verzichtet, nachdem sich in Vorversuchen gezeigt hatte, dass eine lineare Beziehung zwischen Molarität des Phenolphthaleinglucuronids und den gefunden Enzymwerten bestand. Die Inkubationszeit konnte durch diese Abänderung der ursprünglichen Methode von 17 Std. auf 4 Std. reduziert werden, ein Vorteil, der auch neuerdings von Fishman *et al.*[8] angegeben wird. Die Angabe der β-Gluc.-Werte erfolgte in Fishman-Einheiten (F.E.) = μg freigesetztes Phenolphthalein pro Stunde und 100 ml. Zur Bestimmung des Blutzuckers wurde die *o*-Toluidin-Methode angewandt[10].

MATERIAL

Die Diabetikerseren stammten von 113 ambulanten Patienten. Es handelte sich um 57 Männer und 56 Frauen im Alter zwischen 25 und 87 Jahren. Als Kontrollpersonen dienten 97 gesunde Blutspender: 55 Männer und 42 Frauen von 20–65 Jahren. Die Seren wurden bis zur Aufarbeitung bei −20° eingefroren; vorherige Untersuchungen hatten gezeigt, dass sich die β-Gluc.-Aktivität nach dreimonatiger Aufbewahrung der Seren in der Tiefkühlstruhe nicht verändert.

RESULTATE

a. Normalpersonen

Die Bestimmung der β-Gluc.-Werte im Serum von 97 gesunden Erwachsenen ergab für Männer höhere Werte als für Frauen. Bei den Männern wurde ein Mittelwert von 1791 ± 1678 (2 s) F.E., bei Extremwerten von 800–3575 F.E. gemessen, während für Frauen der Mittelwert bei 1317 ± 1244 (2 s) F.E. lag, bei Extremwerten von 600 bis 2350 F.E. Bei der Alterseinteilung der Normalpersonen in 2 Gruppen mit einer Altersgrenze bei 40 Jahren ergab sich für Männer unter 40 Jahren ein Mittelwert von 1720 F.E. gegenüber einem Mittelwert von 1900 F.E. in der Gruppe über 40 Jahren. Bei den Frauen war der Mittelwert der unter 40-Jährigen 1060 F.E., derjenige der über 40-Jährigen 1420 F.E.

b. Diabetiker

Diese zeigten gegenüber den Kontrollpersonen eine deutlich gesteigerte mittlere Aktivität: Bei den 57 männlichen Zuckerkranken betrug sie 2858 F.E. (Extremwerte 800–16600 F.E.) und bei den 56 Frauen erreichte sie 2324 F.E. (Extremwerte 800–5650 F.E.).

DISKUSSION

Normalpersonen

Zuerst sei das Verhalten der β-Gluc. im Serum von Normalpersonen diskutiert, wobei insbesondere auf die Geschlechts- und Altersabhängigkeit eingegangen werden soll. Wie aus Tab. I ersichtlich ist, wurden von den erwähnten Autoren so uneinheitliche Normalwerte angegeben, dass ein Vergleich schwer fällt. Voneinander differierende Methoden und Substratmolaritäten erklären diese Unterschiedlichkeit. Auch die Tatsache, dass in vielen Arbeiten nur eine geringe Zahl von Normalseren untersucht wurde, mag eine Rolle spielen. Die Normalwerte der vorliegenden Untersuchung lagen höher als die in Tabelle I aufgeführten. Am ehesten gleichen sie denjenigen von Miller *et al.*[16]

Abhängigkeit der β-Gluc.-Aktivität vom Geschlecht. In Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Autoren[3,6,9,18,21,24,26,31,32] fand sich eine Abhängigkeit der β-Gluc-Aktivität vom Geschlecht (Abb. 1). Bei Frauen ergaben sich im Mittel um ein Viertel geringere Werte als bei Männern; bei anderen Autoren schwankt die Differenz zwischen 10 und 54% (Tabelle I). Im Gegensatz dazu beobachteten Miller *et al.*[16] keinen Geschlechtsunterschied.

Abhängigkeit der β-Gluc.-Aktivität vom Alter. Da von verschiedenen Autoren[13,15,32] bei Arteriosklerose eine vermehrte Enzymaktivität festgestellt wurde, könnte vermutet werden, dass im Alter allgemein höhere β-Gluc.-Werte anzutreffen wären. Die unterschiedlichen Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen erlauben aber keine sichere Beantwortung dieser Frage. Wir konnten bei der Einteilung der Kontrollpersonen nach 10-Jahres-Gruppen einen leichten Anstieg der Aktivität mit zunehmendem Alter feststellen (Abb. 1). Deutlicher wurde der Unterschied bei der Trennung in lediglich 2 Altersgruppen, wobei die Grenze zwischen den beiden Gruppen—in Übereinstimmung mit Woollen und Turner[31]—bei 40 Jahren gezogen wurde. Auf diese Weise betrachtet, ergab sich für die älteren Frauen, d.h. für diejenigen über 40 Jahren,

TABELLE I

*Autor**	*Jahr*	*β-Glucuronidase-Aktivität*				*Einheiten*	*Substrat*	*Mol.*
		Männer	*N*	*Frauen*	*N*			
Fishman *et al.*[6]	1948	0–181	11	84–230	5	Fishman E (F.E.)	Phenolphthalein-Glucuronid	0.01
Fishman *et al.*[8]	1967	998 ± 267	20	744 ± 233	22	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.06
Miller *et al.*[16]	1966	1410	36	1130	27	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.06
Dohrmann[3]	1960	449 ± 96	14	358 ± 72	15	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.01
Dohrmann[5]	1963	270 ± 22.2	10	233.6 ± 24.0	10	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.01
Schön u. Leipold[21]	1962	37.6 ± 9.2	26	27.9 ± 7.1	25	μMol/Std./l	Phenolphthalein-Glucuronid	0.01
Utermann *et al.*[26]	1964	14.6 ± 5.8	38	10.1 ± 4.6	17	μMol/Std./l	Phenolphthalein-Glucuronid	0.0072
Szász[24]	1967	0.35 ± 1.32	52	0.22 ± 0.99	53	mU = 0.001 I.E.	*p*-Nitrophenyl-Glucuronid	
Nilius[18]	1966	4.0 ± 1.0	—	3.5 ± 1.0	—	I.E.	8-Oxychinolin-β-D-Glucuronid	
Woollen u. Turner[31]	1965	unter 40 J.: 0.31 ± 0.15	35	unter 40 J.: 0.22 ± 0.08	45	I.E.	4-Methylumbelliferyl-Substrat	
		über 40 J.: 0.43 ± 0.19	34	über 40 J.: 0.31 ± 0.14	34			
Med. Univ. Poliklinik, Basel	1967	1791 ± 1678 (± 2S)	55	1317 ± 1244	42	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.03

* Siehe auch [1, 4, 9, 11, 13–15, 19, 20, 27].

TABELLE II

β-GLUCURONIDASE AKTIVITÄT IM SERUM BEI DIABETIKERN

Autor	*Jahr*	*Männer*	*N*	*Frauen*	*N*	*Männer und Frauen*	*N*	*Einheit*	*Methode*	*Mol.*	*Abhängigkeit der Aktivität vom Blutzucker*	*Abhängigkeit der Aktivität von der Schwere des Diabetes*
Miller *et al.*[16]	1966	2220	34	2130	66	2160	100	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.06	nein	nein
Dohrmann[3]	1960	—		—		1262 ± 570	22	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.01	nein	—
Woollen und Turner[32]	1965	0–40 Jahre: 0.33 ± 0.32	20	0–40 Jahre: 0.50 ± 0.40	19	—	109	I.E.	4-Methyl-umbilliferyl-Substrat fluorometrisch Plättchenfreies Plasma		ja	—
		40–80 Jahre: 0.47 ± 0.23	38	40–80 Jahre: 0.46 ± 0.34	32	—						
Med. Univ. Poliklinik, Basel	1967	2858	57	2324	56	2593	113	F.E.	Phenolphthalein-Glucuronid	0.03	nein	nein

eine im Mittel um 25% höhere Aktivität als für diejenigen von weniger als 40 Jahren, bei den Männern dagegen nur ein Unterschied von rund 10%. Während Woollen und Turner[31,32] sowohl bei Männern als auch bei Frauen eine Zunahme der Aktivität mit steigendem Alter feststellten, fanden Dohrmann[3], Utermann *et al.*[26] und Nilius[18] keine signifikante Veränderung. Miller *et al.*[16] beobachteten ohne Trennung nach Geschlecht lediglich in der Altersgruppe zwischen 40 und 49 Jahren höhere Werte.

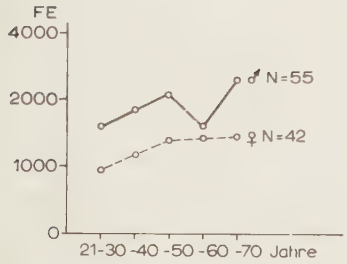

Abb. 1. Mittlere β-Glucuronidase-Aktivität im Serum in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter.

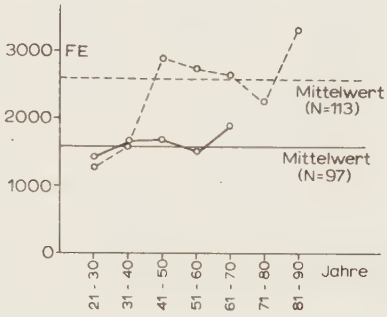

Abb. 2. β-Glucuronidase-Aktivität im Serum bei Normalpersonen und Diabetikern. Ausgezogen: Normalpersonen; Gestrichelt: Patienten mit Diabetes mellitus. Die Gruppen enthalten Männer und Frauen gemischt zu gleichen Teilen.

Diabetiker

Die noch wenig untersuchten Verhältnisse bei Zuckerkranken sind vor allem im Zusammenhang mit der bei Arteriosklerose erhöhten Enzymaktivität von Interesse. Bekanntlich neigen Diabetiker in vermehrtem Masse zur Entwicklung arteriosklerotischer Veränderungen der Gefässe. Bestandteile dieser Gefässläsionen sind Mucopolysaccharide und Glycoproteide. Wie Branwood und Carr[2] bei der Untersuchung menschlicher Coronargefässe nachweisen konnten, besteht eine Korrelation zwischen der Höhe der β-Gluc.-Aktivität und der Ablagerung von Mucopolysacchariden in der Intima arteriosklerotischer Plaques. Eine sowohl bei Arteriosklerose als auch bei Diabetes vermehrte Enzymaktivität im Serum verleitet zur Annahme, es bestehe ein gemeinsamer Stoffwechselweg, dies umso mehr als die Glucose eine zentrale Rolle in der Biosynthese der Glycoproteide spielt[23]. Einen gemeinsamen Weg im Intermediärstoffwechsel könnte nach Miller *et al.*[16,15] der Glucuronsäurecyclus darstellen.

Wie Miller *et al.*[16], beobachteten auch verschiedene andere Autoren bei Diabetikern eine gesteigerte Enzymaktivität; zum Teil fanden sie aber nur bei Frauen erheblich erhöhte Werte (Tabelle 2). So stellten Goldbarg *et al.*[9] fest, dass von 17 weiblichen Zuckerkranken 12 eine gesteigerte β-Gluc.-Aktivität im Serum zeigten, was dagegen nur bei einem von 17 Männern der Fall war. Auch Woollen und Turner[31] beobachteten nur bei Frauen eine Aktivitätsvermehrung und fanden bei Männern kaum erhöhte Werte; bei jüngeren Individuen ergab sich sogar eine Umkehrung der bei Gesunden gefundenen Verhältnisse, indem weibliche Patienten höhere Werte zeigten als männliche. Obschon Dohrmann[3,4] bei beiden Geschlechtern eine gesteigerte Enzymaktivität fand, stellte er doch fest, dass bei den Diabetikern die Frauen nicht tiefere, sondern gleich hohe Werte wie die Männer aufweisen.

Im Gegensatz dazu zeigten in den vorliegenden Untersuchungen die Diabetiker beiderlei Geschlechts eine vermehrte Enzymaktivität (Abb. 2), und wie aus Abb. 3 ersichtlich ist, waren in fast allen Altersgruppen die Werte der Männer deutlich höher als diejenigen der Frauen. Die Tatsache, dass auch bei den Zuckerkranken Männer und Frauen unterschiedliche Werte zeigen, bildet einen weiteren Hinweis dafür, dass die Höhe der β-Gluc.-Aktivität vom Geschlecht abhängig ist.

Ob die Blutzuckerkonzentration und die Höhe der Enzymaktivität im Serum in einer direkten Beziehung zueinander stehen, ist eine Frage, die sich auf der Suche nach Zusammenhängen zwischen diabetischer Stoffwechselstörung und Vermehrung der β-Gluc.-Aktivität stellt. Auch hier sind sich die verschiedenen Autoren nicht einig: Während die Untersuchungen von Woollen und Turner[31,32] eine Korrelation dieser beiden Grössen ergaben, konnten Miller *et al.*[16] und Dohrmann[3,4] keine direkte Abhängigkeit feststellen; Dohrmann[4] beobachtete aber, dass bei stoffwechseldekompensierten Diabetikern die Enzymaktivität sehr stark vermehrt war und dass es unter entsprechender Therapie nach Normalisierung des Kohlenhydrat-Stoffwechsels zu einem langsamen Abfall kam: Während die Werte bei mittelschwerem bis schwerem Diabetes mässig erhöht blieben, kehrten sie bei leichtem Diabetes allmählich wieder zur Norm zurück. Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnte keine direkte Beziehung zwischen β-Gluc.-Aktivität und Blutzuckerspiegel gefunden werden (Abb. 4). Hingegen zeigte sich die Tendenz, dass sehr hohe Enzymaktivitäten in den meisten Fällen mit hohen Blutzuckerwerten einhergingen.

Die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen *Schwere der diabetischen Erkrankung* und Höhe der β-Gluc.-Aktivität bestehe, schien von besonderem Interesse: Zu ihrer

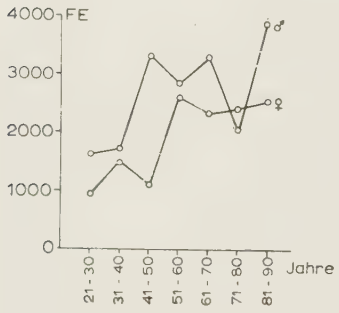

Abb. 3. Geschlechtsunterschied der β-Glucuronidase-Aktivität im Serum bei Diabetikern.

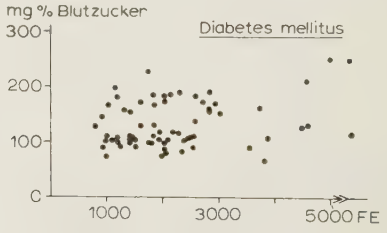

Abb. 4. Fehlende Abhängigkeit der β-Glucuronidase-Aktivität im Serum vom Blutzuckerspiegel bei Diabetikern (Männer und Frauen).

TABELLE III

ABHÄNGIGKEIT DER β-GLUCURONIDASE AKTIVITÄT VON DER SCHWERE DES DIABETES MELLITUS

Therapie	*β-Glucuronidase Aktivität in F.E.*				
	Mittelwerte				*Extremwerte*
	N	♂	*N*	♀	♂ *und* ♀
Diät allein	12	2192	7	1750	800–7075
Orale Antidiabetica	20	2263	18	2170	850–6075
Insulin	10	2043	24	2435	800–5650

Abklärung wurden die Patienten nach Art der Therapie in drei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 umfasste diejenigen Diabetiker, welche mit Diät allein auskamen, Gruppe 2 diejenigen, welche zusätzlich orale Antidiabetika benötigten und in Gruppe 3 waren diejenigen Patienten vertreten, welche mit Insulin behandelt werden mussten. Beim Vergleich der Durchschnittswerte dieser drei Gruppen konnte für Frauen, nicht aber für die Männer mit zunehmender Schwere der Erkrankung ein leichter Anstieg beobachtet werden, der aber nicht als signifikant angesehen werden konnte (Tab. III). Auch Miller *et al.*[16] konnten mit einer etwas anderen Einteilung keine sichere Abhängigkeit der β-Gluc.-Werte von der Schwere des Diabetes feststellen. Die vorliegenden Resultate sprechen dafür, dass kein sicherer Zusammenhang zwischen dem Ausmass der β-Gluc.-Aktivität im Serum von Diabetikern und dem Insulinbedarf besteht, sondern dass die gesteigerte Enzymaktivität Ausdruck einer vermehrten Inanspruchnahme eines nicht insulinabhängigen Stoffwechselweges sein könnte. Solch ein Weg ist der Glucuronsäurezyklus, der, wie von Winegrad und de Pratti[28] und Winegrad und Burden[29] gezeigt wurde, bei Diabetikern in vermehrtem Masse zum Abbau der Glucose benützt wird. Ein gesteigerter Abbau der Glucose über den Glucuronsäurecyclus würde, wie dies von Spiro[23] postuliert wurde, zu einem erhöhten Anfall von wichtigen Komponenten der diabetischen Gefässläsionen wie Glycoproteiden und Mucopolysacchariden führen. Da die β-Gluc. *in vitro* am Abbau von Mucopolysacchariden teilhaben kann[12], könnte die Vermehrung dieses Enzyms im Serum von Diabetikern eine Schutzmassnahme des Organismus bedeuten, die eine übermässige Ablagerung dieser komplexen Karbohydrate ins Gefässystem verhindern soll[15,16].

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe einer leicht modifizierten Methode nach Fishman wurde die Aktivität der β-Glucuronidase im Serum von 97 gesunden Blutspendern untersucht. Die Durchschnittswerte bei Frauen betrugen 1317 ± 1244 (2 s) F.E. und waren etwa um 25% niedriger als bei den Männern, wo sie bei 1791 ± 1678 (2 s) F.E. lagen. Bei Frauen über 40 Jahren waren die Werte durchschnittlich um ein Viertel höher als bei den jüngeren, während bei den Männern nur ein Unterschied von 10% zu verzeichnen war. Die Untersuchung von 113 Diabetiker-Seren ergab gegenüber Normalpersonen eine deutliche Vermehrung der Enzymaktivität bei Männern und Frauen, unabhängig von der Höhe des Blutzuckers und von der Schwere des Diabetes beurteilt nach der Art der Therapie. Der Mittelwert der 57 Männer lag bei 2858 F.E. (Extremwerte 800–16600 F.E.) und derjenige von 56 Frauen bei 2324 F.E. (Extremwerte 800–5650 F.E.). Es scheint, dass die gesteigerte β-Glucuronidase-Aktivität im Serum von Diabetikern auf die vermehrte Inanspruchnahme eines nicht insulinabhängigen Stoffwechselweges für den Glucose-Abbau zurückzuführen ist. Ein solcher Weg wird heute im Glucuronsäurecyclus vermutet.

LITERATUR

1 O. Appert und R. Richterich, *Urol. Intern.*, 20 (1965) 206.
2 A. W. Branwood und A. J. Carr, *Lancet*, ii (1960) 1254.
3 R. Dohrmann, *Z. Ges. Exptl. Med.*, 132 (1960) 585.
4 R. Dohrmann, Das Verhalten der Beta-Glucuronidaseaktivität im Serum bei Diabetes mellitus. *4e Congrès de la Fédération Internationale du Diabète, Genève, 1961*, Vol. 1, Editions Médecine et Hygiène, Genève, 1961, S. 98.

5 R. E. Dohrmann und H. J. Uhles, *Klin. Wochschr.*, 41 (1963) 527.
6 W. H. Fishman, B. Springer und R. Brunetti, *J. Biol. Chem.*, 173 (1948) 449.
7 W. H. Fishman, in H. U. Bergmeyer (Herausg.), *Methoden der Enzymatischen Analyse*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, S. 869.
8 W. H. Fishman, K. Kato, C. L. Anstiss und S. Grenn, *Clin. Chim. Acta*, 15 (1967) 435.
9 J. A. Goldbarg, E. P. Pineda, B. M. Banks und A. M. Rutenburg, *Gastroenterology*, 36 (1959) 193.
10 A. Hyvärinen und E. A. Nikkilä, *Clin. Chim. Acta*, 7 (1962) 140.
11 S. Kayahan, *Lancet*, ii (1960) 667.
12 K. Meyer, *Federation Proc.*, 17 (1958) 1075.
13 B. F. Miller, F. P. Keyes und P. W. Curreri, *Circulation*, 32 (1965) 152.
14 B. F. Miller, F. P. Keyes und P. W. Curreri, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 119 (1965) 1129.
15 B. F. Miller, F. P. Keyes und P. W. Curreri, *Science*, 152 (1966) 775.
16 B. F. Miller, F. P. Keyes und P. W. Curreri, *J. Am. Med. Assoc.*, 195 (1966) 189.
17 B. F. Miller, T. Aiba, F. P. Keyes, P. W. Curreri und A. W. Branwood, *J. Atherosclerosis Res.*, 6 (1966) 352.
18 R. Nilius, *Z. Klin. Chem.*, 5 (1966) 257.
19 C. M. Plum, *Enzymol. Biol. Clin.*, 8 (1967) 97.
20 A. M. Rutenburg, E. P. Pineda, B. M. Banks und J. A. Goldbarg, *Am. J. Digest. Diseases*, 8 (1963) 789.
21 H. Schön und H. Leipold, *Klin. Wochschr.*, 40 (1962) 292.
22 Y. Sera, *Z. Phys. Chem.*, 92 (1915) 261.
23 R. G. Spiro, *Diabetes*, 12 (1963) 223.
24 G. Szasz, *Clin. Chim. Acta*, 15 (1967) 275.
25 P. Talalay, W. H. Fishman und Ch. Huggins, *J. Biol. Chem.*, 166 (1946) 757.
26 D. Utermann, F. Lorenzen und H. Hilz, *Klin. Wochschr.*, 42 (1964) 352.
27 C. Watts, J. MacVicar und D. M. Goldbarg, *Brit. J. Cancer*, 20 (1966) 282.
28 A. I. Winegrad und V. J. de Pratti, *Diabetes*, 14 (1965) 311.
29 A. I. Winegrad und C. L. Burden, *Trans. Assoc. Am. Physicians*, to be published (1968).
30 J. W. Woollen und P. G. Walker, *Clin. Chim. Acta*, 12 (1965) 659.
31 J. W. Woollen und P. Turner, *Clin. Chim. Acta*, 12 (1965) 671.
32 J. W. Woollen und P. Turner, *Lancet*, i (1965) 1071.
33 J. W. Woollen und P. Turner, *J. Am. Med. Assoc.*, 196 (1966) 161.

Printed in The Netherlands